

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

PCT/JP 03/02850

11.03.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日
Date of Application:

2002年 3月11日

出願番号
Application Number:

特願2002-112687

[ST.10/C]:

[JP2002-112687]

REC'D 05 MAY 2003

WIPO PCT

出願人
Applicant(s):

サントリー株式会社

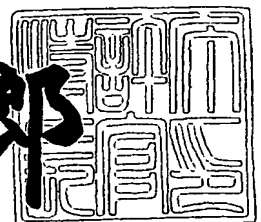
PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 4月15日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



BEST AVAILABLE COPY 出証番号 出証特2003-3027272

【書類名】 特許願

【整理番号】 020554

【提出日】 平成14年 3月11日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A23L

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府池田市井口堂 3-3-1-605

 【氏名】 阿部 圭一

【発明者】

 【住所又は居所】 滋賀県大津市坂本 3丁目 22-12

 【氏名】 飯野 妙子

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市西中条町 4-5-202

 【氏名】 藤居 亙

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府茨木市山手台 6-7-16

 【氏名】 諏訪 芳秀

【特許出願人】

 【識別番号】 000001904

 【氏名又は名称】 サントリー株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100089705

 【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目 2番 1号 新大手町ビル 2
06区 ユアサハラ法律特許事務所

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 社本 一夫

 【電話番号】 03-3270-6641

【代理人】

 【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠弼

【代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【代理人】

【識別番号】 100080137

【弁理士】

【氏名又は名称】 千葉 昭男

【代理人】

【識別番号】 100096013

【弁理士】

【氏名又は名称】 富田 博行

【代理人】

【識別番号】 100092886

【弁理士】

【氏名又は名称】 村上 清

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9706781

【書類名】 明細書

【発明の名称】 S D G の製法およびその配合飲食物

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 セコイソラリシネシロール ジグリコシド (S D G) 含有植物素材を塩基性アルコールで抽出することを特徴とする S D G 高含有物の製造法。

【請求項 2】 S D G 含有植物素材が亜麻種子である、請求項 1 に記載の S D G 高含有物の製造法。

【請求項 3】 亜麻種子が脱脂亜麻粕である請求項 2 の S D G 高含有物の製造法。

【請求項 4】 アルコール濃度が 3 0 から 1 0 0 % (v / v) である請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の S D G 含有組成物の製造法。

【請求項 5】 塩基性アルコールが 0 . 0 5 から 2 N のアルカリを含むアルコールである請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の S D G 含有組成物の製造法。

【請求項 6】 請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載された製造法により製造された S D G 高含有物。

【請求項 7】 請求項 6 に記載された S D G 高含有物からなる飲食物素材。

【請求項 8】 請求項 7 に記載された飲食物素材を含有する飲食物。

【請求項 9】 S D G を 1 日の摂取量として 1 ~ 1 0 0 0 m g 含有する、請求項 8 に記載の飲食物。

【請求項 1 0】 S D G を重量当たり 0 . 0 0 1 ~ 9 0 重量%含有する、請求項 8 に記載の飲食物。

【請求項 1 1】 S D G を 1 日の摂取量として 1 0 ~ 9 0 m g 含有する形態にある請求項 8 に記載の飲食物。

【請求項 1 2】 S D G およびイソフラボン類を含有する飲食物。

【請求項 1 3】 S D G を 1 日の摂取量として 1 ~ 1 0 0 0 m g 含有する、請求項 1 2 に記載の飲食物。

【請求項 1 4】 S D G を重量当たり 0 . 0 0 1 ~ 9 0 重量%含有する、請

求項 12 に記載の飲食物。

【請求項 15】 SDG を 1 日の摂取量として 10 ～ 90 mg 含有する形態にある請求項 12 に記載の飲食物。

【請求項 16】 イソフラボン類を 1 日当たり 10 ～ 90 mg 摂取できる形態にある、請求項 12 に記載の飲食物。

【請求項 17】 SDG が天然物から抽出されたものである、請求項 12 から 16 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 18】 該天然物が SDG 含有植物素材である、請求項 17 に記載の飲食物。

【請求項 19】 該 SDG 含有植物素材が亜麻種子である、請求項 18 に記載の飲食物。

【請求項 20】 女性ホルモンの乱れからくる諸症状の予防および／または改善効果を有する、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 21】 更年期障害の症状の予防および／または改善効果を有する、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 22】 骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりのうち選ばれた 1 つ以上の症状の予防および／または改善効果を有する、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 23】 該飲食物が、パン、ビスケットなどの焼き菓子、ジュース、無糖茶などの飲料、酒類、スープ、飴、ガム、ヨーグルト、アイスクリーム、プディング、ゼリーから選ばれたものである、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 24】 該飲食物が、粉末、顆粒、タブレット、ソフトカプセル、ハードカプセル、内服液、シロップより選ばれた加工形態である、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【発明の詳細な説明】

【発明の属する技術分野】

本発明は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られており、リグナン化合物の一つである S

DG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド、図1参照）を製造するための方法、および、SDGを配合することにより製造可能となる、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗しょう症、高脂血症、肥満、鬱などに有効な食品および飲料に関するものである。

【従来の技術】

更年期障害は、閉経期を迎えエストロゲンが低下することによるホルモンバランスの乱れを原因とする諸症状と考えられ、閉経期までの数年間継続する症状である。更年期に特徴的な症状としては、鬱、ほてり、などが知られている。また、更年期を過ぎると、閉経が訪れるが、これに伴う症状として、骨粗しょう症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、などが挙げられる。

いずれも健康維持に大きな影響を与えるものであることから、適切な対処法が望まれている。治療法としては、対症療法として、骨粗しょう症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱に対する個別の治療法が選択される場合もあるが、これらに有効とされているのがHRTすなわちホルモン療法である。症状が複数あっても、女性ホルモンをとることで劇的な改善が得られる場合も多い。

しかし、このHRTには、乳がん、子宮ガンなどの発ガン性のリスクがあることと、擬似生理による出血などの問題もある。発ガン性に関しては、プロゲステロンとの併用によりほぼ解消されたと考えられているが、発ガン性のイメージは根強く、かつ出血の問題などを併せて、HRTに踏み切る例は、期待効果の大きさほどには多くないと言える。

HRTに匹敵する効能が食品で得られれば、大きなメリットを産み出すことは容易に想像できる。こうした中、近年、日本はもとより米国でも注目を集めているのが植物エストロゲンである。

植物エストロゲンの代表は、大豆イソフラボンであり、最近注目を集めている食品素材である。大豆イソフラボンは、女性ホルモン様作用を示す成分として知られていることから、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗しょう症、高脂血症、肥満、鬱などに有効となる知見が数多く得られている。大豆胚芽抽出物に含まれる大豆イソフラボンは、ゲニステイン（Genistein）、ダイゼイン（Daidzin）およびグリシテイン（Glycitin）

）などの総称であり、ほとんどが配糖体として存在し、腸内微生物によってアグリコン化され、吸収されるものと考えられている。

大豆イソフラボンは構造的にエストロゲンと共通な性質を有することから、エストロゲン受容体に結合することが予想されるが、実際、エストロゲン受容体 $ER\beta$ に選択性をもって結合することが報告されている（*Endocrinology* 139, 4252（1998））。

植物エストロゲンは、古くからその存在は知られており、牛の乳の出を良くするなどの効能のほか、大量摂取により不妊となることも知られている。このことから、その使用には十分な注意が必要となる。ヒトにおける安全性を重視した場合、食経験に基づく安全性が最も重要と考えられる。

日本人は、米国人に比べて子宮ガン、乳がん、および男性の前立腺ガンの発症率が極めて低いと同時に、更年期症状も軽いことが知られている（*J. Nutrition* 125, 757S（1995））。血中のイソフラボン濃度は、これを説明する大きな根拠となるが、日本人は米国人に比べ、約10倍以上あることが確認されている。さらに、大豆イソフラボンは培養細胞や動物を用いた試験により、乳がん、子宮ガンの増殖を抑制することを始め、閉経モデルである卵巣摘出ラットを用いて、骨吸収過程を抑制することにより骨粗しょう症を改善すること、閉経に伴う高脂血症を改善すること、肥満を抑制すること、などの多くの有効性に関する知見が得られている。

こうした知見により、大豆イソフラボンは更年期を始めとする多くの症状を改善する効果が期待でき、かつ安全性も高い植物エストロゲンであると結論づけてよいものと判断できる。

日本人のイソフラボンの平均摂取量は、1日約20mgと考えられている。積極的にイソフラボンを摂取することが推奨されており、イソフラボン摂取を目的とした食品に関して、（財）日本健康・栄養協会では、イソフラボン含有食品と呼ぶイソフラボンを含有する食品における摂取目安量を10～90mgとしている。また、特定保健用食品としても骨吸収抑制作用に基づき、厚生労働省により安全で効能がある素材として許可を得るまでに至っている。

このイソフラボン以外にも、多くの植物エストロゲンと呼ばれる成分が知られ

ている。例えば、ホップに含まれるプレニルナリンゲニン、アルファルファに含まれるクメステロール、そして、最近注目を集めているのは亜麻に含まれるリグナン化合物である。

植物エストロゲンの摂取を地域別に分析すると、東洋ではイソフラボンを主に摂取しているのに対し、北欧では、リグナンを主に摂取していることが判明している。両方の地域ともに、乳がんの発症率および更年期症状の重症度が低いことでその他の地域よりも植物エストロゲンの摂取による恩恵を得ていることが統計的にも示されている。

特にホルモンの作用を有するような活性成分は摂取に十分な注意が必要となる中、イソフラボンとリグナンには、疫学的な有用性を示す知見が存在することからも、イソフラボンとリグナンは世界の2大植物エストロゲンとして研究者によって位置付けられている。

亜麻に含まれるリグナン化合物（亜麻リグナン）は腸内細菌に変換されてエンテロラクトン、エンテロジオールなどの女性ホルモン様作用を示す活性成分に変換されることが明らかにされた（Nature 298, 659 (1982)）。ここで注目すべき点は、リグナン含有植物素材の中で特に亜麻種子に含まれるSDGなどのリグナンが活性成分に変換される効率が高いことがトンプソンらの研究によって明らかになったことである（Flaxseed in Human Nutrition, Chapter 5 (p82-98), academic press, AOCS Press (1995)）。

このように、亜麻リグナンが注目されているが、亜麻自体は古くは新石器時代より食されている他、古代ギリシャ、ローマ、あるいはエジプト時代から現代に至るまで食用とされつづけている。しかし、亜麻種子のままの摂取においては、殻が硬く摂取しても有効に成分が利用されにくいこと、油の含有率が高く高カロリー食品であること、シアン配糖体が含まれていること、およびビタミンBのアンタゴニストの存在などの問題がある。さらに、亜麻種子の油は不飽和脂肪酸の含量が多いため劣化しやすく、日本では工業用油としての利用がほとんどであり、これまで食用としては注目されていなかった。

わが国では、通常の食生活においては豆製品の摂取から判断してイソフラボン

の摂取はある程度高いレベルを保っていると判断できるのに対し、リグナン型の植物エストロゲンに関しては、摂取量が低いことが指摘されている。しかし、亜麻リグナンを高含有する食品はほとんど存在せず、これらを解決した食品素材の開発が望まれていた。

一方、亜麻に含まれるリグナン化合物を食品添加物として利用するという報告がある。特開平11-221048にはイソフラボン、リグナン、サポニン、カテキン、およびフェノール酸を用い、のぼせ、骨粗鬆症、睡眠障害、膣乾燥、月経前症候群を軽減または予防する方法が記載されており、リグナン類の例として亜麻リグナンが記載されている。また、特許第306525号には、退色防止剤としてリグナン化合物が開示され、SDGがリグナン化合物の例として記載されている。しかし亜麻リグナンの生理作用については解明されていない。

また、リグナンの製造法に関しては、亜麻種子からのリグナンの抽出法に関する米国特許第5,705,618号がある。該特許には、アルコール抽出後、濃縮して更にアルカリ処理をするという方法が記載されている。また、日本特許第3065925には、亜麻種子からのアルコール抽出物または粗リグナン配糖体濃縮物を酵素処理もしくは酸処理する方法が開示されている。しかし、これらの製法は、工程が複雑でかつコスト面も改善余地を残すものである。また、亜麻種子にはたん白質が多く含有されることが知られているが、これらの方法ではアミノ酸含有量の低いものしか得られない。

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）の効率的な製造法を開発し、SDGを含有する新規食品素材を実用に供することである。

本発明のさらなる目的は、本発明の新規食品素材を配合した、女性ホルモン（主としてエストロジェン）の乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗しょう症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどの予防および症状軽減に有効な健康食品も含む形態、ジャンルを問わない食品および飲料を提供することである。

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、植物エストロゲンに着目し、さらに亜麻リグナンの生理作用について鋭意検討した結果、驚くべきことに亜麻リグナンに含まれるSDGが女性ホルモンの乱れから来る諸症状たとえば、更年期障害、骨粗鬆症、高血圧症、高脂血症、肥満症、鬱、ほてりなどに対して有効であることを見出した。

さらに、本発明者らは、亜麻種子等に含まれるリグナン化合物SDGを効率よく、しかも高収率で製造する方法を開発した。本発明においては、SDGを含む植物材料、例えば亜麻種子またはその脱脂残渣を、塩基性アルコールで抽出する。本発明によれば、驚くべきことに、塩基性アルコールにより抽出と加水分解を同時に行っても、高収率でリグナン化合物SDGが回収でき、更に原料由来のアミノ酸を合わせて回収することができることが判明した。

従来の、抽出と加水分解を別途行う方法では、両工程の間に濃縮工程も必要であり、事実上3工程が必要であった。これに対して、本発明の方法は1工程でリグナン化合物の抽出が可能であり、SDGの製造が非常に効率化される。

本発明における有効成分であるSDGの製造原料としては、リグナン、特にSDGを含有する天然物であれば使用することができる。例えばリグナンは、オーツ麦、コーン、ライ麦、蕎麦、小麦などの全粒穀物中に2～8mg/kgで含まれている。亜麻種子には、全粒穀物の100倍にも相当する800mg/Kgのリグナンが含有されていると報告されており、SDGの製造原料として特に好ましい。

また、SDGの製造原料としては、亜麻種子を破碎した後、ヘキサンなど、食品の製造に利用できる溶剤で抽出脱脂したものを利用できるが、より望ましくは工業的に亜麻種子から油をヘキサン抽出した残さ、脱脂亜麻粕を用いるのが適当である。この脱脂亜麻粕は通常廃棄されるか家畜の飼料用に用いられており、食品には有効利用されていなかった。

脱脂亜麻粕からのSDGの製法に関しては、二つの留意点がある。一つは亜麻種子に含まれる粘性ムコ多糖の存在、もう一つはリグナン化合物の糖鎖による高分子化である。これらを考慮して開発したSDGの効率的製造法は、分解と同時に抽出するものである。

まず、溶媒に関しては通常植物原料を抽出するのに使われるものが利用可能となるが、特に食品原料として利用可能な溶媒が望ましい。最も適当なのは、食品用のアルコールであり、例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールである。抽出に使用するアルコールは、粘性ムコ多糖が抽出されない濃度にする必要があり、30から100% (v/v) の濃度が望ましいが、例えば50% (v/v) アルコールで抽出することができる。

さらに、上述の濃度では抽出できないSDGをアルカリ条件下に抽出することで糖鎖を加水分解し未抽出SDGを抽出させることにより抽出効率を高めることが可能となる。

このことから、アルカリ条件による加水分解と抽出を併せる方法として、本発明の塩基性アルコール抽出法は、目的成分の回収量を高めると同時に工程を簡素化できることから工業的に大きなメリットを有する方法である。また、塩基性アルコールによる抽出法により、亜麻種子に含まれるたん白質がアミノ酸の形で従来法に比べ効率よく抽出される点からも、本発明の製法は有効である。

亜麻粕に対して用いる抽出液は亜麻粕に対して1から20倍量が適当であるが、バッチ処理に対して循環型の抽出装置ならばより少量の抽出液量で済むことになる。

塩基性アルコール抽出工程に用いるアルカリは、食品製造に利用できるものなら特にその種類は選ばないが、例えば、NaOHを用いることができる。

添加するNaOHの濃度としては、処理する亜麻粕の量に依存するが、0.05から2NのNaOH、より好ましくは0.1から0.2Nである。

塩基性アルコールによる抽出に関しては、通常のアルコール抽出よりも短時間で行なうことができ、室温で行なう場合には30分ないし3時間、典型的には約1時間で抽出が完了する。抽出温度は、通常の抽出装置ならばアルコールの沸点以下が望ましく、例えば室温から70度までの温度が望ましい。加圧可能な抽出装置を利用すれば、より高温での処理も可能となる。

抽出物は、最終的に中和する必要がある。この中和には酸を用いるが、望ましくは食品製造に用いることが出来る酸、たとえば酢酸、塩酸などが良い。添加する酸の量は、抽出物を中和するのに必要な量である。

塩基性アルコール抽出された段階の本発明のSDG高含有物は、SDGは原料から1ないし2%回収される。さらに、アミノ酸として、グルタミン酸、バリン、イソロイシン、ロイシン等を、従来の方法で抽出したSDG高含有物に比べて約8~10倍も多く含んでいる。このSDG高含有物には、シアン配糖体はほとんど含まれていないので、脱塩してそのまま食品素材として用いることが可能である。さらに純度アップを目的として精製工程でより高含有の食品素材にすることも可能である。精製方法としては、食品製造に適する方法であればその手段を選ばないが、例えば、活性炭あるいは、シリカゲル、逆相系樹脂(ODS)、およびスチレンジビニルベンゼン系吸着樹脂(ダイアイオンHP20、三菱化学製)、あるいは、樹脂を用いない方法として、CPC法(遠心液々分離法)、結晶化法、あるいは溶媒に対する溶解性の違いを利用した分画法などを利用することができる。

目的に応じて、用いる条件により、SDGの含有量は固形分当たり10%から90%以上にまで高めることが可能である。特に高純度のサンプルの調製にはODSを用いた分取用HPLCカラムクロマトグラフィーを繰り返すことにより得ることが可能である。

亜麻種子には粘性物質が含有されることから食品・飲料への配合は困難であったが、本発明の製法によれば、この粘性物質を分解することにより、健康維持に有効なリグナン化合物としてSDGを食品・飲料に配合することが可能となった。

。

得られたSDG高含有物は通常の減圧濃縮法、あるいは、スプレードライ法、凍結乾燥法などにより乾燥し、好ましくは粉末物にすることができる。

したがって、本発明は、本発明の方法により抽出される新規SDG高含有食品素材も提供する。本発明により得られたSDG高含有食品素材は、SDGが40重量%までは無色、無臭、無味であり、水に対する溶解性が大きいので、単独でも粉末食品として、または、きな粉などの粉末食品に混入して食することも可能であり、あるいは食品素材として添加するものとして種々の食品や飲料の製造のために使用することもできる。

本発明は更に、SDGを配合することにより、容易に摂取すべき量のSDGを

摂取することができる、経口摂取用組成物を提供する。

SDGを配合した本発明の食品・飲料は、女性ホルモン、特にエストロジェンの乱れからくる諸症状の予防や軽減のために、特に適することが見出された。本発明のSDG含有食品は、SDGとして1日当たり1mgから1000mg、より望ましくは5mgから500mg、特に望ましくは10から250mg摂取されるよう食品に配合するよう設定できる。SDG配合量は食品の利用目的により選択され、毎日継続摂取可能な形態の食品に利用する場合には、例えば10mgから90mgで良い。一方、より保健的な用途を望む場合には、例えば500mgまでの配合も可能となる。

粉末食品あるいはタブレットなどの水分含量が低い食品形態、あるいはそのものの摂取量が少ない場合、SDG配合割合は高めに設定される。用途に応じた摂取量の違いを考慮してSDGを重量あたり例えば0.1%から90%含有するものを調整した食品の開発が可能となる。

また、飲料、レトルト食品等をはじめとする水分含量が多くそのもの自体の摂取量が多い場合にはSDG含量をそれに応じて減らすことができ、重量あたり例えば0.001%から10%までの配合が望ましい。

本発明のSDG高含有物は、一般食品の他、機能性食品、栄養補助食品等の原材料に使用することができる。例としてパン、ビスケット、シリアルバーなどの固形状の食品や、ジュース、スープなどの液状の食品が挙げられる。機能性食品の場合、粉末、顆粒、タブレット、ソフトカプセル、ハードカプセル、内服液、シロップ等の加工形態が挙げられる。これらは、通常使用される方法により製造することができる。

またタブレットを製造する場合であれば、賦形剤としてセルロース、乳糖、デキストリン、粉糖、コーンスターチ、還元麦芽糖、ショ糖脂肪酸エステルなど一般的に使用されているものがいずれも使用できるが、これらに限られるものではない。防湿等のためセラック、カルバナロウ、砂糖などを用いることもあるが、適切にコーティングできるものであれば特に制限はない。その他、他の機能性成分としては抗酸化作用を有する素材、例えばビタミンE、ポリフェノール、カルシウム等のミネラルを配合してもよい。

さらに、水に対する溶解性が高いこと、味、香りともに配合に大きな影響をもたらさないことから保健の目的を持った飲料にも利用可能となる。味付けとしてはお茶や清涼飲料、ドリンク剤（粉末ドリンクも含む）などの種々の形態が採用可能となる。通常の飲料形態の場合、 0.01mg/ml から 10mg/ml の推奨配合量が設定できる。さらに濃縮タイプの飲料の場合には、上限の配合量は濃縮度に応じて高めれば良いことになる。

これまでSDGとイソフラボンの有効性に関する比較については十分なデータが存在しない。これらの活性比較試験を実施し、SDGがイソフラボンと同等あるいはそれ以上の効能を有すること、および、両者を組合せた場合により大きな効果がもたらされることが明らかとなった。SDGとイソフラボンを組み合わせた食品は、本発明によりはじめて提供されるものであり、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗しょう症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどに非常に有効な食品および飲料を提供することが可能である。

イソフラボンの配合量は1日当たり例えば $10\sim90\text{mg}$ 摂取できるように配合される。

【実施例】

以下、本発明に関して、実施例を示して更に説明する。

実施例 1

抽出法

市販の亜麻粕を原料とし、亜麻粕 1kg を 10L の 50% エチルアルコールに懸濁後、 4N の NaOH を 400ml 添加した。攪拌しながら温度を 50°C に上げ、1時間抽出した。酢酸を用いて中和後、ろ過し、減圧下濃縮することにより塩基性アルコール抽出物 342g を得た（組成物1）。

比較のために、 NaOH を添加なしに抽出したものを調製した、すなわち亜麻粕 100g を 50% エチルアルコール 1L で 50°C 、4時間抽出後、抽出物をろ過し、 4N の NaOH を 40ml 添加後4時間 50°C で分解処理した。これを中和後、減圧下濃縮し、 11.1g の抽出物を得た（組成物2）。

実施例 2

SDG分析法、結果

上記組成物 1、2 に関して SDG の抽出量を HPLC 分析により比較した。

分析方法は、ODS カラム (Deverosil 5HG-3、4.6 x 50 mm、野村科学社製) を用い、0.1% TFA (トリフルオロ酢酸) 存在下、流速 1 ml/min、8 分間で 10% から 80% にアセトニトリル濃度を増加させるグラディエント条件にて分析を行った。モニターは 280 nm の波長にて UV 検出器にて行い、ピーク高をもとに定量分析した。

サンプルは水に溶解して測定を行った。

結果を表 1 に示す。

SDG は、本分析条件において、3.8 分のリテンションタイムに現れるピークとして検出可能である。

アルコール抽出した組成物 2 に比べ、塩基性アルコール抽出した組成物 2 では、約 2 割収率が高いことが確認された。

【表 1】

表1 塩基性アルコール抽出法による回収率の上昇

	原料	回収固形物	SDG 含量
塩基性アルコール抽出法	1Kg	242g	15g
アルコール抽出法	100g	11.1g	1.3g

実施例 3

アミノ酸分析法、結果

亜麻種子にはたん白質が多く含有されていることが知られているが、アルコール濃度を高めると抽出しにくいことが予想された。そこで、塩基性アルコール処理によりアミノ酸含有量が高められるかどうかを検討するために、アミノ酸分析を行った。分析は、日立アミノ酸分析システム L8800 形高速アミノ酸分析計により、アミノ酸 (OPA 法) 分析システムを用いて行った。

結果を表 2 に示す。塩基性アルコール抽出した新規製法により、従来法では少量しか抽出されていなかったアミノ酸、特に疲労回復、体力増強などが期待できるとされるグルタミン酸の抽出率が 8.1 倍上昇するとともに、筋肉に取り込まれて直接エネルギー源になると考えられているバリン、ロイシン、イソロイシン

などのアミノ酸含量が約 8 ～ 11 倍に上昇したことから、本発明の製法により、こうした有効成分が効率的に回収できることが確認され、本発明の製法の有効性が確認された。

【表 2】

表2 塩基性アルコール抽出法によるアミノ酸回収率の上昇

	1g亜麻粕あたりのアミノ酸抽出量、mg			
	グルタミン酸	バリン	イソロイシン	ロイシン
塩基性アルコール抽出法	22	38	33	47
アルコール抽出法	2.7	3.6	4.2	4.3
比較(倍率)	8.1	10.6	7.9	10.9

実施例 4

HP20 精製

実施例 1 で得られた組成物 1 の 242 g (SDG 15 g 含有) を水 2 L に溶解し、これをダイアイオン HP20 (8 cm ϕ x 60 cm カラム) に負荷した。8 L の水で洗浄後、40% エタノール (v/v) 5 L で溶出した。溶出は流速 1 vvm で実施した。得られた分画物 (組成物 3) は、39 g、SDG 含量 14.3 g となった。

組成物 3 と同様に実施例 1 と上述の作業で繰り返し分取して得た 95 g (SDG 36.6 g 含有) を水 500 ml に溶解し、これをダイアイオン HP20 (8 cm ϕ x 40 cm カラム) に負荷した。水で洗浄後、10%、15%、20%、40% エタノール (v/v) 5 L ずつでステップワイズ溶出した。溶出は流速 1 vvm で実施した。

分画結果を表 3 に示す。SDG は、10% エタノールではほとんど溶出されなかった。引き続き 15%、20% エタノールで溶出した結果、SDG 14.1 g、16.6 g が回収された。純度はそれぞれ 74.2%、91.0% となった。さらに、40% エタノールで溶出した結果、SDG 2.9 g が回収され、純度は 11.8% であった。また、これ以上エタノール濃度を上昇させても SDG は溶出されなかった。

この結果から、HP20 を用い、純度の高い SDG を調製することが可能とな

った。例えば、アルコール濃度15以上で溶出するのが好ましい。

なお、今回の20%エタノール溶出面分（組成物4）を、効能試験に供した。

【表3】

表3 HP20による分画のまとめ

溶出アルコール濃度	固形物、g	SDG、g	SDG含有率、%
10%エタノール	18	1.1	6.1
15%エタノール	19	14.1	74.2
20%エタノール	18.25	16.6	91.0
40%エタノール	24.5	2.9	11.8
合計	79.75	34.7	43.5

実施例5

効能1；脂質、骨への効果とイソフラボンとの併用効果

更年期モデル動物を用いたエストロゲン様作用に関する試験

閉経後はエストロゲンの低下に伴う破骨細胞の活性化によって骨量が低下し、骨粗鬆症様の症状が起こることが知られている。また、エストロゲンの低下に伴って脂質代謝のバランスが崩れ、高脂血症や高コレステロール血症などの症状が生じやすい。雌ラットの卵巢を摘出するとエストロゲンレベルが低下して上記のような症状を呈するため、更年期障害のモデル動物として汎用される。SDGがエストロゲンの低下を補うことによってこれらの更年期障害を抑制する効果を確認するため、卵巢摘出ラットを用いた実験を行なった。

卵巢摘出による骨粗鬆症モデルラットの作製：

Wistar系ラット（日本チャールズリバー）、♀、34匹に6週齢で卵巢摘出手術、同週齢の9匹に疑似手術を施し、ラット用一般飼料CE-2（日本クレア）にて飼育した。2週間後、卵巢摘出ラットを4群（n=8～9）に分け、それぞれI～IV群とした。陽性対象として、疑似手術を施した卵巢非摘出群（V群、n=9）を設けた。

卵巢摘出ラットの飼育：

飼料は、AIN-93M配合Ca無添加精製飼料（オリエンタル酵母工業製）を基本飼料として、I群およびV群に4週間自由摂取させた。II群には大豆イソフラボン、III群には組成物4（SDG91%含有）、IV群には大豆イソフラボン（80%含有）および組成物4を基本飼料にそれぞれ0.1%添加した飼

料を摂取させた。飼育終了日にラットの体重を測定した後、解剖して採血および右脚大腿骨の摘出を行なった。

骨量低下抑制効果の判定：

ラットの右脚から摘出した大腿骨は、付着した組織片を取り除いた後、100℃で24時間乾燥して重量を測定した。その結果、I群のラットの体重100gあたり的大腿骨重量は、V群と比較して著しい低下が見られたが、II群、III群、IV群ではI群と比較して骨重量の低下を抑制する傾向が見られた（表4）。

【表4】

表4 卵巣摘出ラットの骨重量

	大腿骨乾燥 重量 (体重100あ たり)
I 群	87.9 ± 1.3
II 群	89.5 ± 1.8
III 群	90.9 ± 2.7
IV 群	93.1 ± 2.6
V 群	112.8 ± 1.4

脂質代謝改善効果の判定

ラットの血液から血漿を分離して、自動分析装置（日立）にてトリグリセリドを測定した。I群で見られた著しいトリグリセリド値の上昇に対して、II群では抑制傾向、III群およびIV群では有意な抑制効果が見られた（表5）。

【表 5】

表5 卵巣摘出ラットの血中トリ
グリセリド値

	血中トリグリセリド (mg/dl)	
I 群	50.3	± 7.5
II 群	38.6	± 3.5
III 群	32.0	± 3.2 *
IV 群	28.9	± 3.1 **
V 群	24.7	± 1.9 **

(*:P<0.05,

**:P<0.01vs I 群)

上記の試験例から、SDGは脂質および骨に対する効果を有し、また、イソフラビンと組み合わせることによりその作用が増加することが示され、両者を併用利用することが有効であることが示された。

実施例 6

効能 2 ; 抗肥満効果

7週齢の雌性Wister系ラットを卵巣摘出し、サンプルを1日1回金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与期間は術後14日間とした。各群のn数は8匹とした。

体重を測定し、閉経後の食欲促進による肥満に対する効果を調べた。サンプルは、陽性対照として17βエストラジオール、また、比較サンプルとしては大豆イソフラボンの主要化合物であるゲニステインを用いた。また、SDGは組成物4を用いた。

結果を図2に示す。体重の変化は、SDG50mg/Kg、17βエストラジオール(0.02mg/kg)およびゲニステイン100mg/Kg摂取において体重増加が抑制された。

実施例 7

SDGを含有するタブレットの調製

表6に示した配合でそれぞれの粉体をミキサーで均一に混合し、打錠機を用いて1粒200mgのタブレットを打錠した。次にコーティングパン上でセラック

を噴霧、乾燥させて、タブレットを製造した。

【表 6】

表6

	レシピ1	レシピ2	レシピ3
成分	配合量 (%)	配合量 (%)	配合量 (%)
抽出物3	30	8	15
大豆イソフラビン(30% 含有)		22	15
ビタミンE	9		5
乳糖	18	25	25
セルロース	5	34	29
還元麦芽糖	15		
カルシウム	14	8	8
コーンスターチ	5		
ショ糖脂肪酸エステル	4	3	3
合計	100	100	100

実施例 8

SDGを含有するパンの調製

本発明のSDG40%含有抽出物1gをドライイースト3g、小麦粉500g、砂糖50g、卵1個、塩2g、水300mlと共にボウルに入れて、混ぜてよくこねた。15分間発酵させた後、ガス抜きをして、さらに15分間発酵させた。ガス抜きをして、20等分して丸く成形した。サラダ油を薄くぬったオープン皿に並べて1時間2次発酵させた後、180度に熱したオーブンで20分間焼いて、パンを製造した。

実施例 9

飲料

20Lの飲料水に、クエン酸ナトリウム1g、グルコース200g、SDG80%含有抽出物1gを添加し溶解させた後、クエン酸にてpH4.0に調整後、シトラス香料を添加し、120mlの褐色ビンに詰めて飲料を製造した。

【発明の効果】

本発明によれば、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）を高含有する新規食品素材およびこれを配合した種々

の形態の飲食品の製造が可能となる。

こうしたSDG含有飲食品、特にSDGとイソフラビンとを含有する飲食品は、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗しょう症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどの諸症状を改善できること、あるいは美容効果が期待できる点で、その開発により健康に関する大きな恩恵をもたらすことが期待できる。

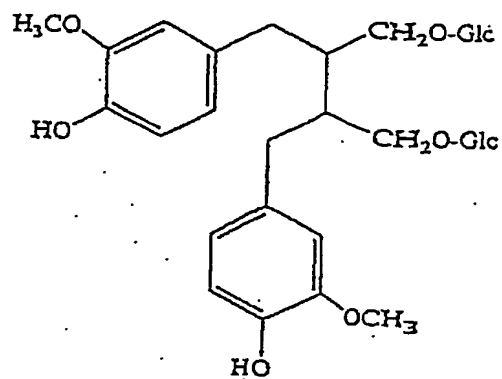
【図面の簡単な説明】

【図1】 SDGの構造式を示す。

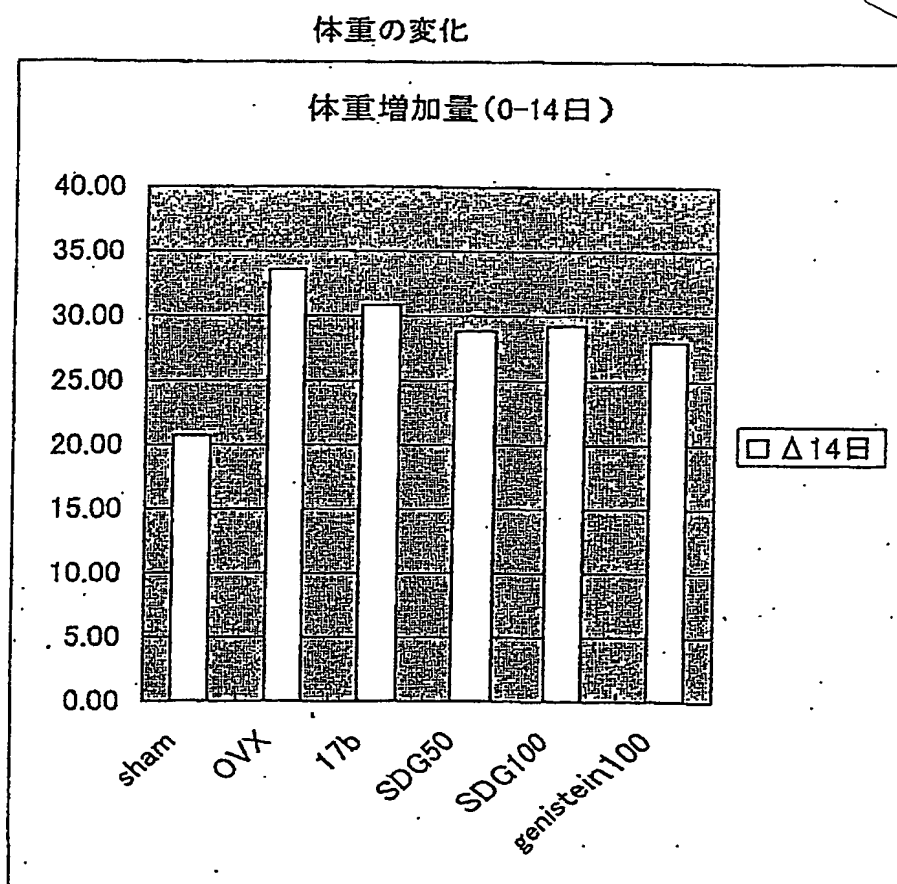
【図2】 抗肥満効果試験における体重の変化を示す。

【書類名】 図面

【図1】



【図2】



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 要約書

【要約】

本発明は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）を製造するための方法、および、SDGを配合することにより製造可能となる、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗しょう症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどに有効な食品および飲料を提供するものである。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001904]

1. 変更年月日 1990年 8月13日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
氏 名 サントリー株式会社